

Experimentelle Untersuchungen
zur Hyaluronidasehemmung
durch Adrenochrom

von

GEORGIS BATISWEILER

München 1962

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
München

Direktor: Professor Dr.W.Seitz

Experimentelle Untersuchungen
=====

zur

===

Hyaluronidasehemmung durch
=====

Adrenochrom
=====

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

Georgis Batisweiler geb.Janssen

aus

München

1962



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.Walter Seitz

Mitberichterstatter: Dr.H Mathies

Dekan: Prof.Dr.Walter Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 31.Juli 1962

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Problematik	4
Eigene Untersuchungen	6
Methodik	6
Versuchsreihen	8
Tabellen	11
Statistische Auswertung	17
Diskussion	29
Zusammenfassung	32
Literaturverzeichnis	33
Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555208_0026

Problematik

Auf Grund der Ergebnisse früherer Arbeiten haben Mathies und Mitarbeiter¹⁻¹⁰⁾ die Vermutung ausgesprochen, daß die Wirkung in vivo hyaluronidasehemmender Substanzen an eine Nebennierenmarkfunktion mit Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin gebunden ist. Im einzelnen haben die Versuche gezeigt, daß der hyaluronidasehemmende Effekt der Salicylate, des Phenylbutazons, des Chloraethylbenzmethoxazons, der Glukocorticoide und der Moorbäder bei adrenalektomierten Ratten ausbleibt, bei hypophysektomierten Ratten dagegen erhalten ist.

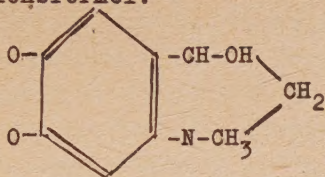
Aus diesen Untersuchungsergebnissen wurde zunächst die Notwendigkeit des Vorhandenseins der Nebennieren für das Zustandekommen der Hemmung der Hyaluronidaseaktivität deutlich. Eine Aussage darüber, ob die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark die Voraussetzung für den hyaluronidasehemmenden Effekt darstellt, war damit noch nicht möglich. Unter Heranziehung von Ergebnissen von Domenjoz¹¹⁾, Mathies⁶⁾ und Jung¹²⁾, die für das Beispiel der Moorbäder durch eigene Untersuchungen ergänzt wurden, konnte festgestellt werden, daß der Ascorbinsäuredepletionseffekt der Nebenniere unter in vivo hyaluronidasehemmenden Stoffen bei hypophysektomierten Tieren ausbleibt, obwohl der hyaluronidasehemmende Effekt erhalten bleibt. Da nach Sayers und Sayers^{13) 14)} die Ascorbinsäuredepletion als Ausdruck einer Nebennierenrindenaktivität zu werten ist, kann gefolgert werden, daß die hyaluronidasehemmenden Stoffe zwar eine Stimulierung der Nebennierenrinde bewirken, daß diese jedoch für das Auftreten des hyaluronidasehemmenden Effektes nicht erforderlich ist. Es war demnach anzunehmen, daß dem Nebennierenmark eine Rolle im Wirkungsablauf hyaluronidasehemmender Substanzen zu-

geschrieben werden muß. Diese Vermutung wurde gestützt durch die Feststellungen von Mathies und Mitarbeitern^{1) 15) 16)}, daß Adrenalin und Noradrenalin nicht nur bei intakten, sondern auch bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung hervorrufen. Außerdem konnten Mathies, Glück, Poulantzas und Schmidt¹⁵⁾ zeigen, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Natriumsalicylates, des Prednisolons, des Oestroneulfates, der Moorbäder und auch des Adrenalins und Noradrenalins durch das Adrenolyticum Ergotamintartrat aufgehoben wird. Eine weitere Stütze für die Annahme einer über das Nebennierenmark laufenden Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen bilden die Ergebnisse von Mathies, Oestreich und Schwabach¹⁷⁾, nach denen die Wirkung der hyaluronidasehemmenden Substanzen durch Ganglienblocker aufgehoben wird, dagegen wird der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins und Noradrenalins nicht blockiert. Nach Eichholtz¹⁸⁾ blockieren die Ganglienblocker das Nebennierenmark als differenziertes Ganglion.-

Da nach Mathies¹⁶⁾ der hyaluronidasehemmende Effekt des Adrenalins und Noradrenalins, wie durch Kontrollen der Pupillenweite festgestellt werden konnte, erst längere Zeit nach Abklingen des primären Katecholamineffektes deutlich wird, wurde angenommen, daß kein direkter Katecholamineffekt vorliegt.

Entweder ist das Auftreten der Hyaluronidasehemmung an das Vorhandensein von Katecholaminabbauprodukten gebunden, oder es mußte ein noch unbekannter Wirkungsablauf angenommen werden, der durch die primäre Katecholaminwirkung in Gang gesetzt wird. Um diese Frage näher zu klären, wurde in der vorgelegten Arbeit der Einfluß des Adrenochroms auf das Hyaluronidasespreading näher untersucht. Adrenochrom hat als Abkömmling des Adrenalins fol-

gende Konstitutionsformel:



Als Dosierung wurden die von Mathies und Mitarbeitern^{1) 15) 16)} mit Adrenalin angewandten Dosen von 1 γ bzw. 6 γ / 100 g Tier zugrunde gelegt. Die mit diesen Adrenalindosen in verschiedenen Versuchsreihen gefundenen Werte der Hyaluronidasehemmung sind in Tabelle 1-3 aufgeführt, um einen Vergleich der mit Adrenochrom erzielten Ergebnisse zu ermöglichen.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Nachfolgende Untersuchungen sollen den Einfluß des Adrenochroms, eines Oxydationsproduktes des Adrenalins, auf die Hyaluronidaseaktivität klären. Die Grundlage bildet der sog. Spreadingtest, d.h. die Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit einer Farbstoff-Quaddel und einer Hyaluronidase-Farbstoff-Quaddel vor und nach Injektion von Adrenochrom.

Der Vergleich der Flächenausbreitung intracutan gesetzter Quaddeln nach Ablauf einer festgesetzten Zeit gibt Aufschluß darüber, ob und wie weit der fragliche Stoff eine hemmende Wirkung auf die Hyaluronidase ausübt.

Durch weitere Quaddelsetzung nach Ablauf von 30, 60 oder 90 Minuten nach der Injektion kann der Verlauf der Hemmung beurteilt werden.

Sämtliche Versuche wurden an männlichen weißen Ratten mit einem Gewicht zwischen 160 und 220 Gramm durchgeführt. Um die Injektion, deren Dosierung und die Messung der Größenausdehnung in größter Genauigkeit ausführen zu können, war eine Narkose der Tiere notwendig. Nach Bestimmung des jeweiligen Körpergewichtes erhielt jede Ratte auf 100 Gramm Tiergewicht 0,2 ccm einer frisch hergestellten Evipan-Natrium-Lösung. Die Lösung bestand aus 5 mg Evipan-Natrium-Substanz in 5 ccm aqua dest. und wurde subcutan am Rücken des Tieres injiziert. Dann erfolgte eine sorgfältige Enthaarung der Bauchhaut mit dem Enthaarungsmittel Pilca, wobei jede Verletzung der Haut vermieden wurde. Nach dem Enthaaren wurde der Bauch der Tiere mit warmem Wasser gereinigt. Ebenso war es wichtig, den Körper der Tiere mit einer Zellstofflage bedeckt zu halten, um ihn vor Auskühlung zu schützen. Mit einer 1 ccm-Rekordspritze wurde jetzt 0,1 ccm Farbstofflösung einer 0,6 ‰ igen Evansblue-Lösung streng intracutan injiziert. Dies gelang am besten mit einer dünnen Kanüle Nr.20. Unter leichtem Anheben der Haut wurde die Kanüle bis zur Hälfte der Nadel subcutan eingeführt, unter Schrägstellung der Spritze näherte sich die Nadelspitze solange der Hautoberfläche, bis sie als dunkler Punkt in der obersten Hautschicht zu erkennen war. - Es wurde immer darauf geachtet, die oberste Quaddel caudal des tastbaren Sternums zu setzen. In gleicher Höhe mit der Farbstoff-Quaddel wurde sofort anschließend eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Hierbei wurden 150 I.E. Hyaluronidase (Kinetin) in 2 ccm der 0,6 ‰ igen Evansblue-Lösung gelöst und 0,1 ccm, also 7,5 I.E., injiziert. Schon nach kurzer Zeit zeigt sich deutlich der Spreadingeffekt der Hyaluronidase, d.h. die Hyaluronidase-Quaddel breitet sich infolge ihrer erhöhten Diffusionsgeschwindigkeit viel schneller im intracutanen Gewebe aus. Nach L e u t h a r d t ¹⁹⁾ beruht diese Tatsache auf einer

Hydrolyse der Mucopolysacharide, die ein wesentlicher Bestandteil der Grundsubstanz sind.

Da nach M a d i n a v e i t i a ²⁰⁾ nur in der ersten Phase, d.h. innerhalb der ersten zehn Minuten, ein Spreadingeffekt der angewandten Hyaluronidase eintritt, erfolgt nach zehn Minuten das Ablesen der Quaddelkonturen. Dabei wird die Farbstoffleckbegrenzung auf einen Zelluloidstreifen übertragen. Der Flächeninhalt der Farbstoffflecken wird planimetrisch bestimmt und in mm² angegeben.

Die intravenöse Injektion der hemmenden Substanz ließ sich am besten mit einer sehr dünnen Spezialkanüle durchführen und erfolgte, nachdem die Haut der Leistenbeuge durchtrennt und die oberflächlich gelegene Vene freipräpariert worden war.

Versuchsreihen

Versuchsreihe I

- a) Bei insgesamt 14 Tieren, die ein Gewicht von 160-210 g hatten, wurde zunächst die zum Vergleich notwendige Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und nach 10 min. abgelesen. Dann erfolgte eine intravenöse Injektion von Adrenochrom und zwar 1 γ /100 g Tier. Hierzu wurde eine Lösung verwandt, in der 4 mg Adrenochrom in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst waren. Unmittelbar nach der Injektion wurde eine zweite und nach Ablauf von 15 min. eine dritte Quaddelsetzung vorgenommen. Auch hier erfolgte das Ablesen nach 10 min. Die Versuchsergebnisse gehen aus Tabelle 4 hervor.

- b) Zwölf Tiere im Gewicht von 165-215 g wurden nach der anfänglichen Quaddelsetzung und einer intravenösen Injektion von 1 γ /100 g Tier Adrenochrom nach Ablauf von 45 und 90 min. gequaddelt.
Die Versuchsergebnisse zeigt die Tabelle 5.

Versuchsreihe II

- a) Acht Ratten von einem Gewicht von 165-200 g erhielten nach der Anfangsquaddelsetzung eine intravenöse Injektion von Adrenochrom in der Dosis von 6 γ /100 g Tier. Dies schien deshalb angezeigt, weil die Hemmung zu diesem frühen Zeitpunkt bei einer Dosierung von 1 γ /100 g Tier nicht so ausgesprochen war. Wie in der Versuchsreihe I wurden die Quaddeln 0 und 15 min. nach der Injektion gesetzt. Hierbei wurde eine Lösung von 24 mg auf 100 ccm NaCl verwandt.
Die Werte ergeben sich aus Tabelle 6.
- b) Acht Tiere im Gewicht von 160-215 g erhielten nach dem Setzen der Vergleichsquaddeln eine Adrenochrominjektion von 6 γ /100 g Tier und wurden nach 45 und 90 min. gequaddelt.
Die Ergebnisse sind aus Tabelle 7 ersichtlich.

Versuchsreihe III

Bei 5 Tieren zwischen 170 und 200 g Körpergewicht wurden nach der anfänglichen Quaddelsetzung 0,8 mg Gynergen (Ergotamintartrat)/100 g Tier injiziert. Nach 30 min. erfolgte eine Adrenochrominjektion von 6 γ /100 g und nach 15 und 90 min. eine erneute Quaddelsetzung. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 8 ersichtlich.

Versuchsreihe IV

Fünf Tiere mit dem Gewicht von 170-220 g wurden zunächst gequaddelt und erhielten dann eine intravenöse Injektion des Ganglienblockers Pendiomid in einer Dosierung von 5 mg/100 g Tier. Nach 30 min. erfolgte die Injektion von 6 γ Adrenochrom/100 g Tier. Die weitere Quaddelsetzung wurde nach den beiden Zeiten vorgenommen, nach denen in der Versuchsreihe II die stärkste Hemmung aufgetreten war, und zwar nach 15 und 90 min. Die Werte stehen in Tabelle 9.

Zeitpunkt	N	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Differenz	p.
		vor	nach		vor	nach			
		6% Adrenalin/100 g i.v.			6% Adrenalin/100 g i.v.				
15'	5	128 mm ²	132 mm ²		205 mm ²	205 mm ²		0	-
45'	5	128 mm ²	-		205 mm ²	177 mm ²		- 28	1,0 %
90'	3	134 mm ²	134 mm ²		224 mm ²	197 mm ²		- 27	-
		1% Adrenalin/100 g i.v.			1% Adrenalin/100 g i.v.				
0'	4	128 mm ²	129 mm ²		205 mm ²	201 mm ²		- 4	-
15'	4	124 mm ²	128 mm ²		204 mm ²	162 mm ²		- 42	1,0 %
45'	4	124 mm ²	-		204 mm ²	180 mm ²		- 24	1,0 %

Tabelle 1 28)

Zeitpunkt	N	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Differenz	p.
		vor	nach		vor	nach			
		1% Adrenalin/100 g i.v.			1% Adrenalin/100 g i.v.				
15'	4	128 mm ²	-		256 mm ²	202 mm ²		- 54	1,0 %

Tabelle 2 15)

Zeitpunkt	N	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			Differenz	p.
		vor	nach		vor	nach			
		6% Adrenalin/100 g i.v.			6% Adrenalin/100 g i.v.				
0'	6	154 mm ²	-		226 mm ²	227 mm ²		+ 1	-
30-60'	24	144 mm ²	-		220 mm ²	187 mm ²		- 33	0,1 %
40'	7	143 mm ²	-		243 mm ²	211 mm ²		- 32	0,1 %
60-105'	4	137 mm ²	-		211 mm ²	195 mm ²		- 16	-

Tabelle 3 27)

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff- Quaddel 0 min.	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 0 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 15 min.
		Adrenochrom 1 $\bar{x}$ / 100 g Tier i.v.					
1	195 g	119	123	120	196	155	125
2	180 g	151	112	103	175	211	162
3	170 g	141	151	152	195	235	202
4	160 g	152	175	135	215	202	225
5	180 g	124	113	137	195	219	165
6	150 g	144	143	113	248	237	175
7	160 g	129	129	135	239	211	201
8	160 g	167	128	135	216	207	237
9	210 g	109	134	124	231	227	212
10	170 g	138	132	155	239	275	219
11	175 g	141	151	140	271	246	195
12	160 g	148	135	151	225	225	175
13	160 g	145	170	165	195	223	235
14	160 g	152	145	143	260	205	205

T a b e l l e 4
Versuchsreihe Ia)

Tier	Gewicht	Farbstoff-	Farbstoff-	Farbstoff-	Farbstoff-	Farbstoff-	Farbstoff-
		Quaddel	Quaddel	Quaddel	Quaddel	Quaddel	Quaddel
			45 min.	90 min.	Hyaluro-	Hyaluro-	Hyaluro-
					nidase-	nidase-	nidase-
					Quaddel	Quaddel	Quaddel
					vor	45 min.	90 min.
					Adrenochrom 1 g / 100 g Tier i.v.		
1	165 g	151	125	123	193	243	175
2	160 g	137	164	129	244	202	185
3	185 g	142	129	129	250	207	168
4	170 g	123	127	115	262	263	205
5	170 g	115	117	111	258	237	177
6	170 g	125	132	152	189	215	169
7	215 g	107	141	149	209	255	201
8	200 g	141	123	140	203	214	192
9	190 g	155	130	138	179	205	229
10	215 g	112	122	123	217	198	214
11	200 g	150	142	142	248	215	211
12	185 g	155	165	135	270	235	221

Tabelle 5
Versuchsreihe I b)

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff- Quaddel 0 min.	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Adrenochrom 6 X / 100 g Tier i.v.		Farbstoff- Quaddel 0 min.	Farbstoff- Quaddel 15 min.
		vor						
1	175 g	170	169	145	225	217	174	
2	200 g	161	149	130	250	258	186	
3	175 g	159	159	134	247	248	166	
4	190 g	154	162	144	293	279	213	
5	160 g	152	149	135	260	215	132	
6	170 g	172	175	156	281	280	221	
7	165 g	162	149	146	275	259	201	
8	185 g	172	180	151	277	272	232	

T a b e l l e 6
Versuchsreihe II a.)

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff- Quaddel 45 min.	Farbstoff- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 45 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 90 min.
		Adrenochrom 6 Y / 100 g Tier i.v.					
1	180 g	173	141	129	275	207	166
2	180 g	162	163	120	280	269	144
3	190 g	166	143	119	246	246	159
4	180 g	142	140	137	242	243	173
5	215 g	142	128	127	219	219	192
6	175 g	169	170	146	290	289	227
7	165 g	160	172	158	291	251	205
8	175 g	170	161	145	262	273	214

T a b e l l e 7
Versuchsreihe II b)

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 90 min.
		Gynergen 0,8 mg/100 g Tier s.o. + Adrenochrom 6 g/100 g Tier i.v.					
1	180 g	170	157	124	264	229	185
2	190 g	164	149	134	287	245	248
3	210 g	149	157	146	232	197	228
4	180 g	140	152	137	271	229	148
5	170 g	167	165	176	258	205	257

T a b e l l e 8 - Versuchsreihe III

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 90 min.
		Pendiomid 5 mg/100 g Tier s.o. + Adrenochrom 6 g/100 g Tier i.v.					
1	170 g	165	155	159	275	212	245
2	175 g	152	169	137	258	264	219
3	185 g	174	169	162	296	291	285
4	220 g	168	151	155	302	282	275
5	185 g	180	142	153	264	275	240

T a b e l l e 9 - Versuchsreihe IV

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Wie schon in der Methodik erwähnt, wurden auf die Bauchhaut der Versuchstiere je eine "Kontroll-Quaddel" und je zwei "Versuchs-Quaddeln" gesetzt. Diese sechs Quaddeln werden in der Statistik als die 6 "Verfahren" des Versuches bezeichnet; die Kontroll-Quaddeln als "Kontrolle", die Quaddeln nach Belastung mit den Prüfsubstanzen als "Versuchszeiten".-

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Hierzu ist es notwendig, die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse in Komponenten zu zerlegen, die den einzelnen systematischen Faktoren entsprechen, durch welche das Versuchsergebnis möglicherweise beeinflusst wird. Derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität, der sich nicht mehr als Folge solcher systematischer Faktoren erklären läßt, ist dann als Schätzung der experimentellen Variabilität aufzufassen.

Als systematische Faktoren waren bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung zu berücksichtigen:

das individuelle Reaktionsniveau der Versuchstiere,
die Wirkung der 6 Verfahren.

Wir bedienen uns einer mehrfachen Varianz-Analyse, um die Größe des Einflusses dieser systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse zu schätzen. Diesen Varianz-Analysen liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Weise unabhängig überlagert. Die Varianz-Analysen liefern in Form von "Varianz-Komponenten" Schätzungen

für die Größe des Anteils an der Gesamt-Variabilität, den ein systematischer Faktor bedingt. Außerdem erhält man aus den Varianz-Analysen in Form der "Rest-Varianz" eine Schätzung der experimentellen Variabilität.

Primär ist die Frage zu klären, ob ein systematischer Faktor einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse besitzt. Dies ist nur dann der Fall, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch gesichert größer ist als die experimentelle Variabilität, d.h. die Rest-Varianz. Ob dies zutrifft, wird mit Hilfe des Varianz-Quotienten-Tests (F-Test) geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde liegt, interessiert hier primär der Einfluß, den die 6 Verfahren auf die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Quaddeln ausüben. Hierbei muß zunächst zwischen den beiden Quaddeltypen unterschieden werden. Außerdem ist für jeden Quaddeltypus einzeln zu prüfen, ob statistisch gesicherte Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Versuchszeiten einerseits und zwischen den Versuchszeiten selber andererseits vorliegen. Diesen Fragestellungen entspricht in den Varianz-Analysen je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Verfahren" gehört. Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanzen auf die Diffusionsgeschwindigkeit eines Quaddeltypus liegt nur dann vor, wenn mindestens eine der beiden orthogonalen Komponenten, die zu diesem Quaddeltypus gehören, statistisch gesichert größer ist als die experimentelle Variabilität. Auch zur Prüfung dieser Frage wird der F-Test herangezogen.

Das lineare statistische Modell und somit die Varianz-Analyse läßt keinerlei Schlüsse auf die absolute Wirksamkeit eines "Verfahrens" zu; es ist vielmehr nur mög-

lich, den Unterschied in der Wirksamkeit je zweier Verfahren statistisch zu prüfen. Die Größe des Unterschiedes wird hierbei auf die folgende Weise geschätzt: Es sei $\bar{x}(V)$ das arithmetische Mittel aller Meßwerte, die bei dem Verfahren V beobachtet wurden. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu 2 verschiedenen Verfahren gehören, ist dann eine optimale Schätzung für den Unterschied in der "Wirkung" der Verfahren; gemessen werden hierbei die Differenzen in der Ausbreitungsgeschwindigkeit, die zu diesen beiden Verfahren gehören.

Bei der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär der Unterschied $\mathcal{J}\bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$ zwischen den Versuchszeiten t und der Kontrolle K. Im Prinzip wird in der Varianz-Analyse nichts anderes geprüft als die Frage, ob diese Mittelwertsdifferenzen $\mathcal{J}\bar{x}(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden sind.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in Tabelle 10 bis Tabelle 13 dargestellt. Der obere Teil dieser Tabellen enthält für jede Versuchsreihe das Ergebnis der Varianz-Analyse; im unteren Teil finden sich für jedes Verfahren die Mittelwerte $\bar{x}(V)$ und außerdem die Mittelwertsdifferenzen $\mathcal{J}\bar{x}(t)$. Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergibt, daß eine Mittelwertsdifferenz $\mathcal{J}\bar{x}(t)$ statistisch von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" die Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben, mit welcher diese Aussage maximal behaftet ist.

In den Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

- p: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: den Varianz-Quotienten zwischen der Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Nur wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit p des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ nicht größer ist als 5 %, liegt ein statistisch gesicherter Einfluß eines systematischen Faktors bzw. ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den verschiedenen Verfahren vor. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit p maximal den Wert 1 % besitzt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, eine Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ sei gesichert von 0 verschieden, wurde daher nur angegeben, wenn sie höchstens 5 % beträgt.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Versuchsreihe 1: Bei der hier angewandten Dosierung läßt sich ein statistisch gesicherter Einfluß von Adrenochrom auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel nicht nachweisen. Dagegen ergibt sich aus den Varianz-Analysen, daß Adrenochrom einen statistisch faßbaren Einfluß auf die Ausbrei-

tungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel ausübt. Aus der Größe und dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenzen $\mathcal{S}\bar{x}(t)$ ergibt sich, daß es sich hierbei um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zu den Zeitpunkten 15 min. und 90 min. p.i. handelt; die Irrtumswahrscheinlichkeit dieser Aussagen ist maximal 1 %. Bemerkenswert ist bei dieser Versuchsreihe, daß zum Zeitpunkt 45 min. p.i. keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nachweisbar ist; praktisch besitzt die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu diesem Zeitpunkt die gleiche Größe wie die "Kontroll-Quaddel" ($\mathcal{S}\bar{x}(45') = -3 \text{ mm}^2$). Offensichtlich verläuft die Hyaluronidasehemmung durch Adrenochrom zweiphasig.

Versuchsreihe 2: Bei der hier angewandten Dosierung ergibt sich eine statistisch gesicherte Beeinflussung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel durch Adrenochrom. Es handelt sich hierbei um eine Verminderung dieser Ausbreitungsgeschwindigkeit, was sich aus dem Vorzeichen der Mittelwerts-Differenzen $\mathcal{S}\bar{x}(t)$ ergibt. Ihren maximalen Wert erreicht diese zu den Zeitpunkten 15 und 90 min. p.i.

Für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel ergibt sich ebenfalls eine statistisch gesicherte Verminderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit nach der Applikation von Adrenochrom, deren maximale Werte zu den Zeitpunkten 15 und 90 min. angenommen werden (Irrtumswahrscheinlichkeit 0.1 %). Zum Zeitpunkt 45 min. p.i. sowie zum Zeitpunkt 0 min. p.i. liegt ebenfalls eine statistisch schwach gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor. Vergleicht man die Mittelwerts-Differenzen in dieser Versuchsreihe mit

denjenigen der Versuchsreihe 1, so zeigt sich ein deutlicher Dosierungseffekt; der Ablauf des Versuches ist jedoch in den beiden Versuchsreihen qualitativ gleich. Bemerkenswert ist, daß sich in der vorliegenden Versuchsreihe die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität ebenfalls zweiphasig vollzieht; dies trifft auch für das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel zu.

Versuchsreihe 3: Ein statistisch gesicherter Einfluß der Prüfsubstanzen auf das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddeln läßt sich hier nicht nachweisen. Dagegen liegt eine statistisch hoch gesicherte Veränderung in der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor. Aus der Größe der Mittelwertsdifferenzen $\mathcal{S}\bar{x}(t)$ ergibt sich, daß diese Hemmung kleiner ist als diejenige in der Versuchsreihe 2; dies kann als ein Effekt der vorangegangenen Applikation von Gynergen gedeutet werden.

Versuchsreihe 4: Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen entsprechen denjenigen der Versuchsreihe 3, allerdings ist hier die Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nur schwach gesichert. Die Größe dieser Hemmung ist kleiner als in der Versuchsreihe 3 und somit erst recht kleiner als in der Versuchsreihe 2. Hieraus kann geschlossen werden, daß durch die vorangegangene Applikation von Pendiomid die hyaluronidasehemmende Aktivität des Adrenochroms teilweise blockiert wird, wobei diese Blockade wirkungsvoller ist als diejenige, die durch Gynergen erzielt werden konnte.

A D R E N O C H R O M 1 γ /100 g Tier

0' und 15'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	13	18.231	1.402	3'52	0'1 %
Zwischen Verfahren	5	120.704	24.141	60'66	0'1 %
Zw.Quaddel-Typen	1	114.552	114.552	100'00	0'1 %
Zw.Kontr.u.V.- Zeiten (Farbst)	1	60	60	-	
Zw. Versuchs- Zeiten (Farbst)	1	39	39	-	
Zw.Kontr.u.V.- Zeiten (Hyaluro- nidase)	1	1.801	1.801	4'53	5 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	4.251	4.251	10'68	1 %
Rest - Varianz	65	25.880	398		
Gesamt - Varianz	83	164.815	1.986		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t)$	-	$\bar{x}(V)$	Sicherung
F _v	140	233				
FH _v	221	795				
F _{0'}	139	351	- 1		-	
FH _{0'}	220	723	- 1		-	
F _{15'}	136	290	- 4		-	
FH _{15'}	195	1000	-26		1 %	

T a b e l l e 10 a
=====

A D R E N O C H R O M 18 /100 g Tier

.45' und 90'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	11	6.082	553	1.32	-
Zwischen Verfahren	5	127.446	25.489	60.98	0.1 %
Zw.Quaddel-Typen	1	120.213	120.213	100.00	0.1 %
Zw. Kontr.u.V.- Zeiten (Farbst)	1	7	7	-	
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	40	40	-	
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyaluronidase)	1	2.312	2.312	5.53	5 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	4.873	4.873	11.66	1 %
Rest - Varianz	55	22.967	418		
Gesamt - Varianz	71	156.495	2.204		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(V)$	Sicherung
F _V	134	302		
FH _V	227	1018		-
F _{45'}	135	245	+ 1	-
FH _{45'}	224	473	- 3	-
F _{90'}	132	164	- 2	-
FH _{90'}	196	438	-31	1 %

T a b e l l e 10 b

=====

A D R E N O C H R O M 6 γ /100 g Tier

0' und 15'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P.
Zwischen Tieren	7	9.624	1.375	5.98	0.1 %
Zwischen Verfahren	5	104.286	20.857	41.71	0.1 %
Zw.Quaddel-Typen	1	77.281	77.281	100.00	0.1 %
Zw.Kontr.u.V.- Zeiten (Farbst)	1	609	609	2.64	-
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	1.425	1.425	6.19	5 %
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyaluronidase)	1	9.158	9.158	39.81	0.1 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	15.813	15.813	68.75	0.1 %
Rest - Varianz	35	8.039	230		
Gesamt - Varianz	47	121.949	2.595		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(V)$	Sicherung
F _v	163	62		
FH _v	263	491		
F _{0'}	161	151	- 2	-
FH _{0'}	253	656	-10	5 %
F _{15'}	143	80	-20	5 %
FH _{15'}	191	1083	-72	0.1 %

T a b e l l e 11 a
=====

A D R E N O C H R O M 6 γ /100 g Tier

45' und 90'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	7	10.341	1.477	5.33	0.1 %
Zwischen Verfahren	5	113.830	22.766	82.19	0.1 %
Zw.Quaddel-Typen	1	83.250	83.250	100.00	0.1 %
Zw.Kontr.u.V.- Zeiten (Farbst)	1	1.508	1.508	5.45	5 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	1.173	1.173	4.24	5 %
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyaluronidase)	1	11.194	11.194	40.41	0.1 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	16.706	16.706	60.31	0.1 %
Rest - Varianz	35	9.692	277		
Gesamt - Varianz	47	133.863	2.848		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(V)$	Sicherung
F _V	160	148		
FH _V	263	659		
F _{45'}	152	264	- 8	5 %
FH _{45'}	250	755	-13	1 %
F _{90'}	135	191	-25	1 %
FH _{90'}	185	845	-78	0.1 %

T a b e l l e 11 b

=====

G Y N E R G E N 0,8 mg/100 g Tier

15' und 90'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P.
Zwischen Tieren	4	3.231	808	1.51	-
Zwischen Verfahren	5	55.299	11.060	20.64	0.1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	47.681	47.681	88.96	0.1 %
Zw. Kontr. u. V.- Zeiten (Farbst)	1	230	230	-	
Zw. Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	397	397	-	
Zw. Kontr. u. V.-Zeiten (Hyaluronidase)	1	6.840	6.840	12.76	1 %
Zw. Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	152	152	-	
Rest - Varianz	20	10.715	536		
Gesamt - Varianz	29	69.245	2.388		

	$\bar{x}(V)$	$s^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(V)$	Sicherung
F _v	158	166		
FH _v	262	406		
F _{15'}	156	37	- 2	-
FH _{15'}	221	384	-41	1 %
F _{90'}	143	394	-15	-
FH _{90'}	213	2099	-49	1 %

T a b e l l e 12

=====

P E N D I O M I D 5 mg/100 g Tier

15' und 90'

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	4	4.014	1.004	3.56	5 %
Zwischen Verfahren	5	86.771	17.354	61.54	0.1 %
Zw.Quaddel-Typen	1	84.482	84.482	100.00	0.1 %
Zw.Kontr.u.V.- Zeiten (Farbst)	1	529	529	1.88	-
Zw.Versuchs-Zeiten (Farbst)	1	40	40	-	-
Zw.Kontr.u.V.-Zeiten (Hyaluronidase)	1	1.360	1.360	4.82	5 %
Zw.Versuchs-Zeiten (Hyaluronidase)	1	360	360	1.28	-
Rest - Varianz	20	5.632	282		
Gesamt - Varianz	29	96.417	3.325		

	$\bar{x}(V)$	$S^2(V)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(V)$	Sicherung
F _v	168	111		
FH _v	279	375		
F _{15'}	157	138	- 11	-
FH _{15'}	265	969	- 14	5 %
F _{90'}	153	192	- 15	-
FH _{90'}	253	724	- 26	5 %

T a b e l l e 13
=====

Diskussion

Die durchgeführten Ergebnisse haben gezeigt, daß Adrenochrom als Abbauprodukt des Adrenalins ebenfalls das Hyaluronidasespreading hemmt, jedoch in der Dosierung von 1 γ /100 g Tier nicht im gleichen signifikanten Ausmaß wie Adrenalin selbst. In der Dosierung von 6 γ /100 g Tier ist die Hyaluronidasehemmung dagegen deutlich. Das pharmakologisch unwirksame Adrenochrom besitzt also hinsichtlich der hyaluronidasehemmenden Wirkung prinzipiell den gleichen Effekt, und dieser tritt bei 6 γ /100 g anscheinend etwas früher in stärkerem Ausmaß auf als bei Adrenalin. Im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten Untersuchungsergebnissen kann diskutiert werden, ob es sich bei der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Adrenalins um einen Adrenochromeffekt handelt.

Inzwischen durchgeführte Untersuchungen von Mathies und Schlierf²¹⁾ lassen jedoch wieder an dieser Annahme zweifeln. Diese Autoren konnten feststellen, daß bei adrenaletomierten Tieren während einer Adrenalininfusion über zwei Stunden keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität auftritt. Diese wird vielmehr erst nach Absetzen der Infusion sichtbar und ist 45 min. nach Infusionsende deutlich. Adrenalinabbauprodukte müßten jedoch im Verlauf von zwei Stunden bereits in genügender Menge zur Verfügung stehen, so daß eine Hyaluronidasehemmung während der Infusion auftreten müßte, wenn man die Hyaluronidasehemmung als Adrenochromeffekt ansehen wollte.

Wenn bei adrenaletomierten Tieren während der genannten Adrenalindauerinfusion kurzfristig höhere Adrenalindosen injiziert werden, so tritt ein hyaluronidasehemmen-

der Effekt bereits während der Infusion im gewohnten Zeitabstand nach den zusätzlichen Injektionen auf. Dieses Verhalten ließ vermuten, daß ein Absinken des Katecholaminblutspiegels von einem höheren auf ein niedrigeres Niveau den Wirkungsablauf der Hyaluronidasehemmung in Gang setzt. Hierbei scheint nur die Niveaudifferenz, nicht aber die absolute Höhe des Katecholaminblutspiegels maßgebend zu sein.

Von balneologischer Seite wird angenommen, daß die vagale Gegenregulation auf eine primäre sympathikotone Phase bei Anwendung balneologischer Maßnahmen in der Rheumatherapie therapeutisch wirksam sei. Auf die Bedeutung der Hyaluronidasehemmung antirheumatisch wirksamer Substanzen hat Mathies²²⁾ hingewiesen. Untersuchungen von Mathies und Kramer²³⁾ haben jedoch gezeigt, daß Acetylcholin und Prostigmin bei adrenaletomierten Tieren keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erkennen läßt. Damit wird die Hyaluronidasehemmung als Ausdruck einer vagalen Reaktionslage unwahrscheinlich.

Es bleibt deshalb vorerst die Annahme, daß ein Absinken des Katecholaminblutspiegels von höheren auf niedrigere Werte einen bisher unbekannten Wirkungsablauf in Gang setzt.

Dieser Katecholamineffekt ist vielleicht nicht an die chemische Struktur des pharmakologisch wirksamen Adrenalins gebunden, sondern ist möglicherweise auch den oxydierten Abbauprodukten eigen. Auffallend ist der Befund der weitgehenden Blockierung der Hyaluronidasehemmung des Adrenochroms durch den Ganglienblocker Pendiomid. Wenn das Adrenochrom hinsichtlich der Hyaluronidasehemmung die gleiche Wirkung entfalten sollte wie Adrenalin, so dürfte eine Blockierung dieser Wir-

kung durch Ganglienblocker nicht zu erwarten sein. Bereits erwähnte Untersuchungen von Mathies, Oestreich und Schwalbach¹⁷⁾ haben gezeigt, daß die Hyaluronidasehemmung des Adrenalins durch Pendiomid nicht aufgehoben wird.

Dieses Verhalten erscheint auch sinnvoll, da Pendiomid das Nebennierenmark blockiert, nicht aber lytisch auf zugeführte oder ausgeschüttete Katecholamine wirkt, wie dieses z.B. bei Ergotamintartrat der Fall ist. Es muß deshalb diskutiert werden, ob das Adrenochrom bei intakten Ratten eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt und dann diese erst die Hyaluronidasehemmung hervorruft.

Eine zusätzliche Katecholaminausschüttung durch parenterale Zufuhr wird im Gegensatz zu anderen Autoren auch von Forst²⁴⁾ und Malorny²⁵⁾ angenommen und wurde durch Untersuchungen von Mathies, Schlierf²¹⁾ und Kainz²⁶⁾ weiterhin wahrscheinlich gemacht.

Zur Klärung dieser Fragestellung führt auch das Ergebnis einer partiellen Blockierung der Hyaluronidasehemmung des Adrenochroms durch Ergotamintartrat nicht weiter.

Es wären demnach Untersuchungen mit Adrenochrom bei adrenalektomierten Tieren mit und ohne vorherige Gabe von Ganglienblockern anzuregen.

Auch wären Untersuchungen mit Adrenochromdauerinfusionen zur weiteren Abklärung dieser hier vorliegenden Verhältnisse wünschenswert.

Zusammenfassung

Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß Adrenochrom auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine statistisch faßbare Hemmung ausübt, die zweiphasig abläuft und ihre Maximalwerte zu den Zeitpunkten 15 und 90 min. p.i. hat. Dies gilt sowohl für die mit 1 γ als auch die mit 6 γ Adrenochrom durchgeführten Versuche.

Ein hemmender Einfluß auf die reinen Farbstoff-Quaddeln konnte bei 1 γ Adrenochrom nicht festgestellt werden, bei 6 γ jedoch ergab sich eine statistisch gesicherte Verminderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit. Auch hier liegt das Maximum bei 15 und 90 min.

Die Versuche ergaben weiter, daß das Ergotamintartrat Gynergen und der Ganglienblocker Pendiomid die hyaluronidasehemmende Aktivität des Adrenochroms teilweise blockieren, wobei der blockierende Einfluß des Pendiomid stärker ist als der des Gynergen.

Literaturverzeichnis

1. Mathies, H., u. Jankowski, A.: Klin. Wochschr. 35, 892 (1957)
2. Mathies, H., Biechels, J., u. Hartmann, M.: Ärztl. Forsch. 14, I/160 (1960)
3. Mathies, H., - von Werther, G.: Arzneimittelforsch. 2, 576 (1959)
4. Mathies, H.: Ztschr. ges. exper. Med. 131, 118 (1959)
5. Mathies, H., u. von Werther, G.: Ztschr. angew. Bäder- und Klimahk. 5, 503 (1958)
6. Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 308 (1959)
7. Mathies, H.: Ztschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
8. Mathies, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
9. Mathies, H.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 64 Kongr. 1958
10. Mathies, H.: VI. Internationaler Kongr. f. Universelle Moorforsch. Juni 1958, Spa
11. Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 225, 14 (1955)
12. Jung, M.: Diss. München, in Vorbereitung
13. Sayers, G., - Sayers, M.: Ann- N.Y. Acad. Sci. 50, 522 (1949)

14. Sayers, G. - Endocrinology 40, 256 (1957)
Sayers, M.:
15. Mathies, H. - Med.exp. 1, 64 (1959)
Glück, A. -
Poulantzas, J. -
Schmidt, D.:
16. Mathies, H.: Arch.int.pharmacol. CXXIII, 334 (1960)
17. Mathies, H. - in Vorbereitung
Oestreich, G. -
Schwalbach, C.:
18. Eichholtz, F.: Lehrb.d.Pharmakol. Springer,
Berlin-Göttingen-Heidelberg 80 (1957)
19. Leuthardt, F.: Lehrb.d.Phys.Chem. De Gruyter,
Berlin 654 (1957)
20. Madinaveitia, J.: Biochemie 32, 1806 (1938)
21. Mathies, H. - in Vorbereitung
Schlierf, G.:
22. Mathies, H.: Med.Klin. 52, 1676 (1957)
23. Mathies, H. - in Vorbereitung
Kramer, H.J.:
24. Forst, H.W.: persönliche Mitteilung
25. Malorny, G.: Deutsch.med.Journ. 4, 1 (1953)
26. Kainz, A.: München, in Vorbereitung

27. Mathies, H.: Ärztl. Forsch. XII I/87 (1958)
28. Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn CXXXIII,
336 (1960)

Herrn Professor Dr. W. S e i t z danke ich für die
Überlassung des Themas, ebenso Herrn Dr. H. Mathies
für die Anregung zu dieser Arbeit und die Unterstützung
bei der Bearbeitung des Themas.

Mein Dank gilt auch Herrn Dipl.-Math. K. L i e b r i c h
für die Durchführung der statistischen Berechnungen.

Lebenslauf

Am 12. September 1937 wurde ich als Tochter des Bankdirektors Georg Janssen und seiner Ehefrau Hendrika geb. Buchholz in Essen an der Ruhr geboren.

Nach dem Volksschulbesuch in Oberhausen (Rhld.) von 1943 - 1947, der durch unsere Evakuierung nach Arnstadt in Thüringen unterbrochen wurde, besuchte ich das Neusprachliche Mädchengymnasium in Oberhausen. Dort legte ich am 3. März 1956 meine Reifeprüfung ab.

Nach einem halbjährigen Aufenthalt in England begann ich mein Medizinstudium an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg (Brg.) im Herbst 1956. Nach zwei Semestern ließ ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München immatrikulieren und bestand hier nach drei weiteren Semestern im Winterhalbjahr 1958/59 meine ärztliche Vorprüfung. Das medizinische Staatsexamen beendete ich am 25. Juli 1962



